

Contribution à l'étude des sucres du cotonnier⁽¹⁾

J. BOURELY *

Mots clé : Sucres ; miellats ; coton ; méthodes.

RÉSUMÉ

La connaissance des sucres du cotonnier intéresse la recherche (entomologie, technologie), mais aussi les industries, alimentaire et textile.

Après avoir rappelé les principales méthodes couramment utilisées pour doser les sucres chez les végétaux, l'auteur passe en revue les méthodes particulièrement adaptées au cotonnier et à ses dérivés, graines, farines, fibres.

Une nouvelle méthode de chromatographie sur couche mince est décrite, permettant de doser à la fois les monoses et les oligosaccharides. Une première variante du procédé s'adresse particulièrement à l'identification et au dosage du glucose, du fructose et des oligosaccharides (saccharose, mélézitose, raffinose, stachyose). Une seconde application du même procédé est parfaitement adaptée à la séparation et au dosage des monoses (rhamnose, xylose, arabinose, fructose, glucose), du saccharose, du mélézitose et du raffinose.

Quelques résultats d'analyses sont présentés dans le cadre des problèmes de collage des fibres en filature.

D'importantes conclusions se dégagent de cette expérimentation : les fibres du cotonnier sont naturellement chargées de sucres à l'intérieur même de la capsule ; elles sont ultérieurement souillées par des sécrétions d'insectes et de cellules végétales, spécialisées (nectaires) ou non spécialisées (cellules blessées). Le mélézitose n'est présent que si la plante a été parasitée par des insectes. L'abondance du saccharose est directement liée à l'intensité des pullulations. Le raffinose n'existe que dans les graines et leurs dérivés (tourteaux, farines). Aucun sucre particulier ne caractérise le miellat produit par un parasite déterminé.

INTRODUCTION

De nombreuses méthodes sont proposées pour doser les sucres chez les végétaux. Leur multiplicité s'explique par la grande diversité des sucres et par la complexité chimique des milieux dans lesquels ils se trouvent. Ainsi, chez le cotonnier, il existe des sucres dans tous les organes végétatifs, mais ceux des feuilles, par exemple, sont des sucres simples, totalement différents des oligosaccharides des graines.

Pour la détermination des « sucres solubles totaux », des méthodes générales peuvent être utili-

sées, mais si l'on désire identifier et doser individuellement chaque sucre, il convient d'employer des méthodes plus spécifiques.

Cet article a pour objet de faire le point sur les principales méthodes de dosage et de préciser les techniques analytiques les mieux adaptées à quelques cas particuliers de la production cotonnière.

Deux applications nouvelles sont décrites et comparées aux méthodes classiques couramment utilisées.

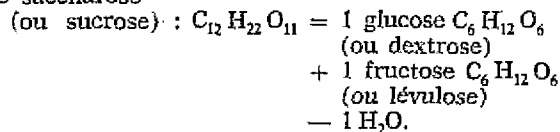
NOMENCLATURE CHIMIQUE

— Les oses ou monoses, ou monosaccharides, sont des sucres simples non hydrolysables, formés d'une molécule renfermant de l'hydrogène, de l'oxygène et 5 ou 6 atomes de carbone, donnant respectivement les pentoses (xylose, arabinose, par exemple) et les hexoses (glucose, fructose...).

— Les biholosides, ou bisaccharides, sont constitués par l'assemblage de deux oses, avec élimination d'une molécule d'eau.

Ce sont, par exemple :

le saccharose



* Laboratoire de Chimie des plantes textiles I.R.C.T., Centre de recherches du G.E.R.D.A.T., B.P. 5035 Montpellier Cedex.

⁽¹⁾ Ce travail a été réalisé avec la collaboration technique de Mmes A. LAINE et V. VIALETES.

le lactose : $C_{12}H_{22}O_{11} = 1 \text{ glucose } C_6H_{12}O_6$
 + 1 galactose $C_6H_{12}O_6$
 — 1 H_2O .

— Les triholosides, ou trisaccharides, sont formés par l'association de trois oses, avec perte de deux molécules d'eau. Ainsi :

le raffinose (ou gossypiose) : $C_{18}H_{32}O_{16} = 1 \text{ glucose } C_6H_{12}O_6$
 + 1 fructose $C_6H_{12}O_6$
 + 1 galactose $C_6H_{12}O_6$
 — 2 H_2O

le mélézitose : $C_{18}H_{32}O_{16} = 1 \text{ glucose } C_6H_{12}O_6$
 + 2 fructose ($C_6H_{12}O_6$) 2
 — 2 H_2O .

Sous les termes généraux de carbohydrates, hydrates de carbone, oligosaccharides, polysaccharides

et saccharides, on englobe des substances glucidiques, de complexité chimique variable, mais qui, après hydrolyse, donnent toujours naissance à des sucres simples. Les holosides, ou polyholosides, ou polysaccharides, produisent exclusivement des oses, alors que les hétérosides fournissent, avec les oses, des substances non glucidiques qui peuvent présenter des fonctions chimiques diverses. Les oligosaccharides sont des polysaccharides dont la molécule contient seulement un petit nombre d'oses.

Les sucres sont réducteurs (xylose, sorbose, arabinose, rhamnose, galactose, mannose, glucose, fructose, lactose, mélébiose, turanose, etc.) ou non réducteurs (saccharose, raffinose, mélézitose, stachyose, verbascose, etc.).

Les hexoses (monoses à 6 atomes de carbone) ont tous la même formule chimique $C_6H_{12}O_6$; ils se distinguent par leur fonction cétone (fructose, sorbose) ou aldéhyde (glucose, galactose).

LES PRINCIPALES MÉTHODES DE DOSAGE DES SUCRES

— Un premier groupe de méthodes utilise le pouvoir réducteur de certains sucres : méthode de FEHLING, de BERTRAND (BRUNEL, 1949), de SOMOGYI (WHISTLER et WOLFROM, 1962), de SHAFFER-SOMOGYI (A.O.A.C., 1965), de PERKINS (1972). Ces méthodes sont d'un emploi limité, car tous les sucres ne sont pas réducteurs. Par contre, d'autres substances, présentes dans les milieux biologiques, sont réductrices; elles sont, par conséquent, dosées comme des sucres, si l'on ne prend pas soin de les éliminer par des moyens appropriés (défécation, séparation chromatographique).

— Les méthodes enzymatiques permettent de doser spécifiquement chaque sucre. Elles nécessitent donc la mise en œuvre préalable de techniques analytiques qualitatives pour identifier le ou les sucres présents. En outre, ces méthodes sont d'un emploi limité, car elles ne s'appliquent qu'à un petit nombre de saccharides.

— Les méthodes colorimétriques font appel aux réactions colorées qui se produisent lorsque les sucres sont mis en présence de certains réactifs, le phénol et l'acide sulfurique (DUBOIS et coll., 1956), l'anthrone en milieu sulfurique (SCOTT et MELVIN, 1957), l'acide sulfurique (SCOTT et coll., 1967). En raison de leur manque de spécificité, ces techniques ne permettent de doser que les « sucres totaux »; elles ne fournissent des résultats valables que lorsque le matériel ne contient que des sucres, mais elles donnent des valeurs exagérément élevées quand il renferme des substances organiques interférentes.

— Les méthodes chromatographiques effectuent, en une ou en plusieurs opérations, la séparation, l'identification et le dosage des sucres, même si certains d'entre eux sont présents en très faible proportion par rapport aux autres. On utilise la chromatographie sur papier, sur couches minces, en phase liquide et en phase gazeuse (Annexe I).

LE DOSAGE DES SUCRES DU COTONNIER

Les différents organes du cotonnier contiennent des sucres, en particulier les feuilles, mais aussi les graines et leurs dérivés (amandes, tourteaux, farines) et les fibres.

Les méthodes classiques décrites dans la littérature (BRUNEL, 1949; SCOTT et MELVIN, 1957; WHISTLER et WOLFROM, 1962) permettent d'évaluer les teneurs en sucres solubles totaux, réducteurs et non réducteurs. En outre, il importe de pouvoir préciser la nature et les proportions respectives de chacun de ces sucres. Pour cela, la chromatographie offre une gamme étendue de possibilités. Elle-même peut être complétée par d'autres techniques, particulièrement adaptées à quelques cas particuliers (par exemple, pour le dosage des sucres qui imprègnent les fibres de coton qui « collent » en filature).

Nous indiquerons, ci-après, les différentes méthodes que nous utilisons à l'I.R.C.T. Nous présenterons ensuite quelques résultats d'analyses de matériels divers et nous dégagerons les conclusions que l'on peut tirer de cette expérimentation sur le plan de la recherche cotonnière (technologie, entomologie).

I. PROTOCOLE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

1. Préparation de la matière première

a) Graines et farines

Une prise d'essai de 5 grammes de matière première finement broyée est pesée à la balance de

Fig. 2. — Chromatographie sur couches minces. Plaque de gel de silice tamponnée par l'acide borique 0.1 N.

x = xylose; a = arabinose; ri = ribose; fu = fucose; ma = mannose; ga = galactose; so = sorbose; rh = rhamnose; g = glucose; f = fructose; s = saccharose; m = mélézitose; r = raffinose; st = stachyose; t = turanose; ml = maltose; la = lactose; me = mélibiose; ce = cellobiose; agl = acide glucuronique; ag = acide galacturonique.

Le rhamnose se détache nettement des autres sucres. Les pentoses sont les plus proches du front du solvant.

La plupart des hexoses et des oligosaccharides se séparent bien les uns des autres et sont facilement identifiables. Le fructose a une couleur rose, le sorbose violette. Lactose et mélibiose migrent à la même distance de la ligne de base. La résolution de mélanges de glucose, fructose, saccharose, mélézitose, raffinose et stachyose est excellente.

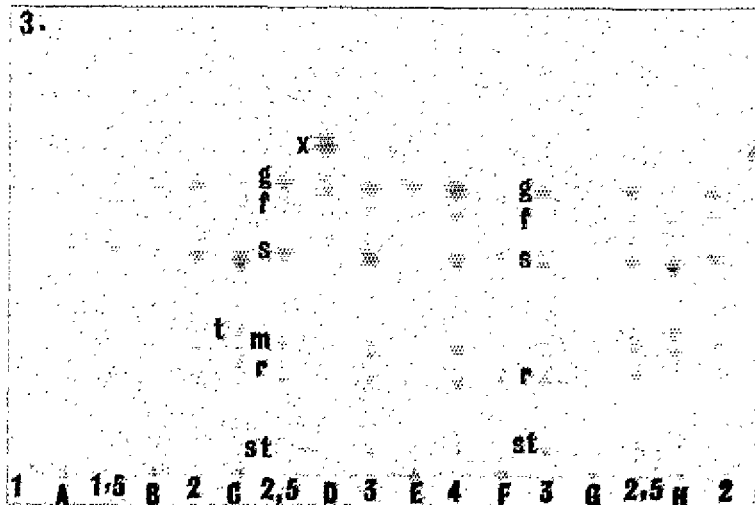
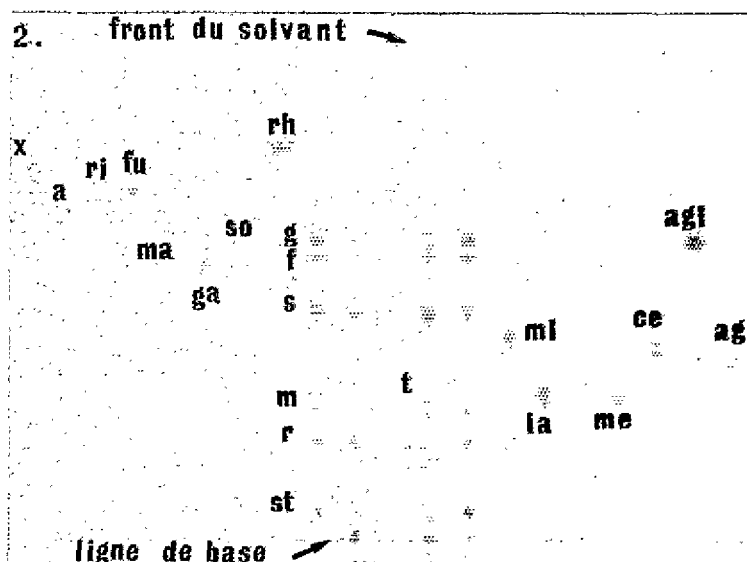


Fig. 3. — Chromatographie sur plaque de gel de silice tamponnée par l'acide borique 0.1 N. 1, 1.5, 2, 2.5, 3 et 4 sont les concentrations respectives, en gramme par litre, de chacune des solutions des six sucres témoins :

g : glucose; f : fructose; s : saccharose; m : mélézitose; r : raffinose; st : stachyose. x : xylose; t : turanose.

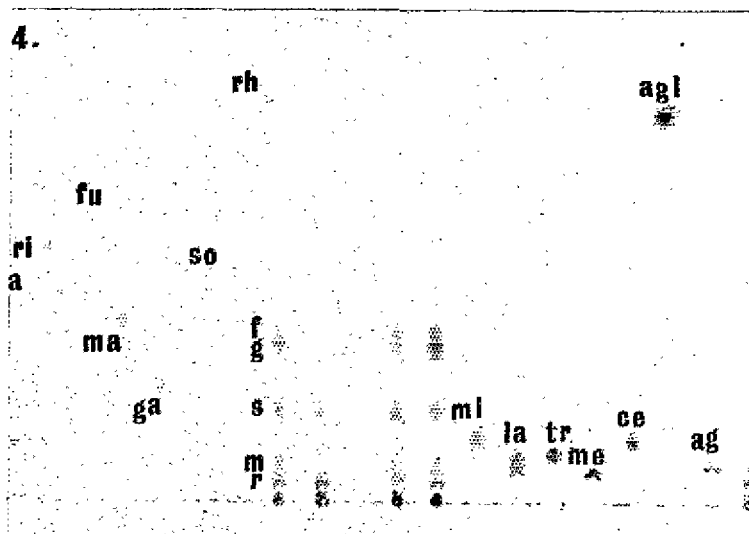
A, B, C, D, E, F, G, H, I désignent des extraits de fibres commerciales ou de graines (dépôts effectués : 1 µl).

Fig. 4. — Chromatographie sur couches minces. Plaque de gel de silice tamponnée par le phosphate monosodique 0.4 N.

a : arabinose; ri : ribose; fu : fucose; ma : mannose; ga : galactose; so : sorbose; rh : rhamnose; f : fructose; g : glucose; s : saccharose; m : mélézitose; r : raffinose; ml : maltose; la : lactose; tr : tréhalose; me : mélibiose; ce : cellobiose; agl : acide glucuronique; ag : acide galacturonique.

On note que les Rf du rhamnose, du fucose, du ribose et de l'arabinose sont nettement différents. Ces pentoses peuvent donc être aisément séparés.

Pentoses, fructose (rose), glucose (bleu), galactose, saccharose, maltose, mélézitose et raffinose se différencient bien les uns des autres et ne peuvent être confondus.



précision. Un second prélèvement, de 2 à 3 grammes, est effectué simultanément pour la détermination de la teneur en humidité (il subit un étuvage à 105°C jusqu'à poids constant).

La matière est traitée, au reflux, par 50 ml d'alcool éthylique à 80° G.L., à ébullition, pendant une demi-heure. Après refroidissement, elle est centrifugée puis extraite à nouveau par 30 ml d'alcool. On procède comme précédemment, puis on mélange les extraits alcooliques et on les ramène, dans une fiole jaugée, à un volume déterminé, généralement 100 ml. Cette solution peut être utilisée telle quelle, sans purification préalable, ou après déprotéinisation par l'hydroxyde de baryum et l'acide sulfurique (voir plus loin).

b) Fibres

5 grammes de fibres sont triturés avec 50 ml d'eau distillée bouillante, puis essorés à l'aide d'une petite presse à main. Les fibres sont rincées plusieurs fois à l'eau bouillante, puis essorées à nouveau. Les liquides de lavage, réunis, sont ramenés au volume de 50 ml dans une fiole jaugée.

2. Détermination de l'extrait sec total

Une prise d'essai de 10 ml est transvasée dans un ballon à col rodé et évaporée à sec, à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide. Le ballon est refroidi un quart d'heure au dessiccateur, puis pesé.

On calcule l'extrait sec total, exprimé en grammes pour 100 grammes de matière première, telle quelle ou à 0% d'humidité.

II. CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

L'extrait sec est repris par une quantité convenable d'eau distillée, 1 ml pour les fibres, 2 ml pour les graines. Cette solution est soumise à l'analyse chromatographique (VAUTIER, 1971).

On utilise des feuilles de papier chromatographique SCHLEICHER et SCHULZ 2043 b mg/l ou WHATMAN n° 1, de 46 cm de longueur sur 30 cm de largeur, sur lesquelles on délimite deux demi-feuilles de 23 cm de longueur. A 8 cm de la base, et sur toute la longueur de la feuille, on trace, au crayon, une droite et, sur celle-ci, 30 points équidistants de 1,5 cm. A partir de la gauche, et tous les 2 points, on effectue des dépôts successifs de 0,0025 ml de 4 solutions à analyser. Sur une même demi-feuille, un échantillon sera donc analysé deux fois. De part et d'autre de chaque échantillon, on dépose 0,0025 ml de solutions témoins de concentration croissante, contenant du glucose, pour la demi-feuille gauche, et, en quantité égale, du fructose, du saccharose et du raffinose, pour la demi-feuille droite. Les concentrations utilisées sont : 1 ; 2 ; 3 et 4 g de chacun des sucres témoins par litre de solution.

La feuille est suspendue dans une cuve de chromatographie descendante. Son bord supérieur plonge dans une auge de verre remplie de la phase supérieure du mélange suivant :

n-butanol/acide acétique/eau (4:1:5) ;
la phase inférieure du solvant est versée au fond du récipient. Après un séjour d'une nuit, la feuille, entièrement imbibée de solvant, est retirée de la cuve et mise à sécher dans une hotte ventilée.

Lorsqu'il est entièrement sec, le chromatogramme est découpé en ses deux demi-feuilles. Sur la partie gauche, on pulvérise le réactif suivant, spécifique des sucres à fonction aldéhyde :

aniline	0,93 g
acide o-phthalique cristallisé	1,66 g
n-butanol saturé d'eau	100 ml

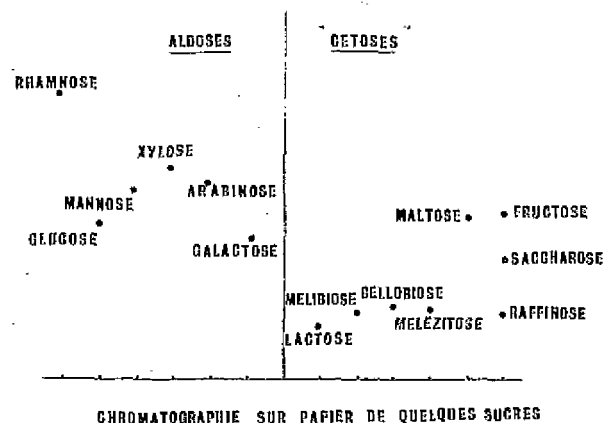
Sur la moitié droite, on identifie les sucres possédant une fonction cétone. On pulvérise une solution d'urée chlorhydrique, ainsi composée :

urée	5 g
acide chlorhydrique 2 N	20 ml
alcool éthylique à 90° G.L.	80 ml

Les deux demi-chromatogrammes sont « révélés » séparément à l'étuve à 105° pendant 15 minutes. A l'emplacement de chaque sucre, il se forme une tache colorée, brune pour les aldoses, violette pour les cétooses et les oligosaccharides.

L'identification des sucres de solutions inconnues s'effectue par comparaison de leur position avec celle des témoins.

L'analyse quantitative est réalisée en comparant la dimension des taches et l'intensité de leur couleur avec celles des témoins dont on connaît la concentration en sucres.



CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER DE QUELQUES SUCRES

Fig. 1. — Chromatographie sur papier de quelques sucres. Sur la demi-feuille gauche, on isole les monoses à fonction aldéhyde.

Sur la moitié droite de la feuille, on dose les monoses possédant une fonction cétone et les oligosaccharides. La résolution d'un mélange de fructose, saccharose et raffinose est excellente.

Maltose et fructose, se retrouvant au même niveau, ne seraient pas séparés ; il en est de même du mélibiose, du cellobiose, du mélézitose et du raffinose. Ces sucres confondus seraient dosés comme du raffinose.

Cette méthode est essentiellement utilisée pour les sucres qui imprègnent les fibres de coton (VAUTIER, 1971); elle est simple et précise. Quatre échantillons peuvent être analysés, simultanément, sur une même feuille. La manipulation complète nécessite une quinzaine d'heures.

Bien que l'identification rigoureuse des sucres ne puisse être établie, on a cependant l'habitude d'exprimer les résultats de l'analyse en glucose, fructose, saccharose et raffinose (ou mélézitose), ces sucres étant pratiquement les seuls présents dans les extraits de fibres de coton. Le fait que l'on ne puisse pas identifier d'une manière spécifique les sucres par chromatographie sur papier justifie les recherches que nous avons menées pour mettre au point une méthode de chromatographie sur couches minces qui permette de doser individuellement chaque sucre sans ambiguïté.

III. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

L'extrait sec, précédemment préparé (voir plus haut), est repris par l'eau distillée et soumis à l'analyse chromatographique, sans purification.

On utilise des plaques, de verre ou de plastique, de dimensions 20 cm \times 20 cm et revêtues, sur 0,25 mm d'épaisseur, d'un film de gel de silice, de très fine granulométrie (grains de 60 Å de diamètre, en moyenne).

Les plaques de gel de silice du commerce sont livrées toutes préparées (plaques MERCK ou WHATMAN).

Deux variantes du même procédé peuvent être utilisées.

1. Pour analyser des mélanges constitués principalement d'hexoses et d'oligosaccharides (fig. 2 et 3), il est nécessaire de tamponner la plaque de gel de silice par une solution aqueuse d'acide borique 0,1 N (solution titrant 6,183 g d'acide borique H_3BO_3 par litre). Cette opération s'effectue par pulvérisation ou trempage, puis séchage de la plaque à l'air libre.

2. Lorsque la solution analysée renferme essentiellement des pentoses et des hexoses, il convient d'employer des plaques tamponnées par le phosphate monosodique 0,4 N (solution contenant 53,19 g de phosphate monosodique PO_4H_2Na , H_2O par litre (fig. 4)).

Dans les deux cas, les plaques, tamponnées et sèches, sont activées à l'étuve à 110°C une heure avant leur utilisation.

Pour l'analyse quantitative, on procède de la manière suivante:

A 2 cm de la base, et sur toute la longueur de la plaque, on trace au crayon une droite et, sur celle-ci, 21 points équidistants de 0,9 cm. A partir de la gauche et tous les 2 points, on effectue des dépôts successifs de 1 μ l de 6 solutions « témoins » contenant, en concentration croissante, une quantité égale de glucose, fructose, saccharose, mélézitose, raffinose et stachyose, respectivement 1; 1,5; 2; 2,5; 3 et

4 g de chacun des 6 sucres, par litre de solution. On utilise ensuite la gamme de concentration décroissante (3; 2,5; 2; 1,5 et 1 g par litre) pour réaliser les dépôts suivants.

Depuis la gauche de la plaque, de part et d'autre des témoins successivement mis en place, on dépose 1 μ l de chacune des 5 solutions à analyser. On renouvelle la même opération sur la moitié droite de la plaque; de cette manière, chaque échantillon est analysé deux fois.

Les taches, ponctuelles ou de dimension très réduite (diamètre inférieur à 2 mm) sont séchées à l'air chaud. La plaque est ensuite placée dans une cuve de verre renfermant, sur 1 cm d'épaisseur, le mélange suivant fraîchement préparé (ce mélange solvant doit être renouvelé assez fréquemment pour éviter la formation de produits de dégradation qui seraient comptés comme des oligosaccharides):

méthanol	10 ml
acétate d'éthyle	60 ml
acide acétique	15 ml
eau distillée	10 ml

On procède à trois développements successifs d'une heure, dans la cuve maintenue à la température ambiante et en atmosphère sèche (entre deux développements, la plaque est séchée à l'air chaud).

La hauteur moyenne du front du solvant se situe à 9 ou 10 cm de la ligne de base (ligne des dépôts).

Durant chaque migration, les sucres, entraînés par le mélange solvant vers la partie haute de la plaque, sont plus ou moins retenus, par adsorption, sur le gel de silice et se déplacent à des vitesses différentes.

A l'issue des trois développements, les sucres, naturellement incolores, doivent être rendus visibles. Leur « révélation » s'effectue en pulvérisant sur la plaque, sous une hotte, le réactif suivant:

diphénylamine	2 g
aniline	2 ml
acétone	100 ml
acide phosphorique à 80 %	15 ml

Les taches correspondant à chaque sucre apparaissent en chauffant le chromatogramme à l'étuve à 110° pendant 15 minutes; leur coloration est différente selon le sucre considéré; elle est rose pour le fructose (fig. 2), bleue pour le glucose et la plupart des sucres à fonction aldéhyde; celle du rhamnose est verdâtre, celle du sorbose violette; celles du saccharose, du mélézitose et du raffinose sont bleutées. Les sucres alcools (mannitol, sorbitol, inositol) ne sont pas révélés. Par contre, les acides glucuronique (fig. 2 et 4, agl) et galacturonique (fig. 2 et 4, ag) sont très bien décelés sous forme de taches bleues ou mauves.

L'utilisation de plaques tamponnées par l'acide borique 0,1 N permet de très bien séparer le glucose, g, le fructose, f, et les oligosaccharides (fig. 2 et 3, saccharose, s, mélézitose, m, raffinose, r, et stachyose, st). Par contre, la plupart des pentoses (fig. 2, xylose, x, arabinose, a, ribose, ri, etc.) et certains hexoses, qui ont des Rf importants, ne peuvent

pas être différenciés. (Rappelons que le Rf est le rapport entre la distance parcourue par la substance chromatographiée et la distance parcourue par le front du solvant.)

L'emploi de plaques tamponnées par le phosphate monosodique 0,4 N (fig. 4) offre une excellente séparation des pentoses, du fructose, du glucose, du galactose, du saccharose, du mélézitose et du raffinose. Par contre, le stachyose reste situé au niveau de la ligne de base.

On note, grâce à leurs colorations spécifiques, que les taches du glucose (bleues) et du fructose (roses) sont inversées par rapport au chromatogramme tamponné par l'acide borique (fig. 2 et 3).

A titre indicatif, nous avons relevé, dans le tableau 1, les Rf des sucres les plus courants, chromatographiés avec des plaques tamponnées par l'acide borique ou par le phosphate monosodique.

Pour l'analyse quantitative, on compare la dimension et la coloration des taches de chacun des sucres des solutions inconnues avec celles des témoins (fig. 3). On en déduit directement la concentration du sucre correspondant, en grammes par litre, pour l'extrait déposé (1 µl). Connaissant la dilution de la solution mère et en fonction de la prise d'essai de matière première initiale (fibre, graine, farine), on calcule la teneur en sucre de l'échantillon.

Si la concentration en sucres des solutions analysées s'écarte de celles des témoins, l'analyste peut la ramener dans la gamme convenable en modifiant la dilution de la solution de base.

Expression des résultats

Conclusions

Admettons le protocole opératoire suivant :

— traitement de 5 g de matières premières (fibres, graines ou farines); extrait total ramené à 50 ml; prise d'essai de 10 ml; dessiccation complète puis reprise par 1 ml d'eau.

Cette solution est directement soumise à l'analyse.

Dans ces conditions, la concentration en un sucre donné, évaluée en g/l et estimée sur le chromatogramme, correspond aussi au poids de ce sucre contenu dans 1 000 g de matière première analysée.

Cette méthode chromatographique sur couche mince présente les avantages suivants :

— lecture directe des résultats sur le chromatogramme, en g de sucres pour 100 g de matière première sans calcul ou avec un calcul très simplifié;

— souplesse de la manipulation (on utilise directement l'extrait alcoolique ou aqueux, sans purification);

— excellente séparation des pentoses, des hexoses et des oligosaccharides, en particulier le mélézitose et le raffinose;

— colorations spécifiques du fructose (rose) et du glucose (bleue), qui permettent leur identification immédiate;

— dosage simultané des sucres et des acides glucuronique et galacturonique;

— rapidité du dosage (5 heures de manipulation, environ, pour 5 échantillons).

Tableau 1. — Chromatographie sur couche mince de gel de silice (Rf × 100) de quelques sucres, chromatographiés sur plaques de gel de silice différemment tamponnées

Sucre	Tampon	
	Acide borique 0,1 N	Phosphate monosodique 0,4 N
Rhamnose	71	68
Xylose	68	46
Fucose	67	47
Mannose	62	27,5
Ribose	66	38
Arabinose	65	28
Glucose	57	23
Fructose	54	27
Galactose	53	17
Sorbose	52	30
Saccharose	42	13
Cellobiose	40	10
Tréhalose	34	5,3
Mélibiose	28	3,6
Mélézitose	27	3,6
Raffinose	25	1
Stachyose	7,5	0
Verbascose	3	0

Si la distance atteinte par le front du solvant à partir de la ligne des dépôts est de 10 cm, le nombre indiqué dans le tableau 1 est la distance, en mm, parcourue par le sucre correspondant.

Le seul inconvénient de cette méthode est la non-conservation des chromatogrammes (le fond devient bleu) lorsqu'on ne les maintient pas à l'abri de la lumière.

IV. METHODE DE DOSAGE DES SUCRES SOLUBLES TOTAUX, A L'ANTHRONE, EN MILIEU SULFURIQUE

Cette méthode est applicable aux sucres réducteurs (WHISTLER et WOLFROM, 1962) et non réducteurs (SCOTT et MELVIN, 1957). Elle utilise un réactif composé de 0,5 g d'anthrone (polyphénol dérivé de l'anthracène) dissout, à froid, dans 145 ml d'eau distillée, le tout étant ramené au volume de 500 ml avec de l'acide sulfurique concentré.

Mode opératoire

— Pour les graines et les farines, on procède à une défécation des solutions de base par 0,4 ml d'une solution saturée d'hydroxyde de baryum pour 5 ml d'extrait; on précipite l'hydroxyde de baryum en excès par 0,1 ml d'acide sulfurique dilué au demi.

— Pour les fibres, il est inutile d'effectuer la défécation des extraits aqueux (voir plus loin, tableau 2).

Dans une série de tubes à essais, on verse 1 ml de chacune des solutions à analyser (1 ml ne doit pas contenir plus de 0,5 mg de sucres totaux) et 5 ml du réactif à l'anthrone. Comme témoin, on emploie de l'eau distillée traitée de la même façon que la solution analysée. On agite soigneusement les tubes et on les porte au bain-marie, à 80°C, pendant 20 minutes. Les sucres forment, avec l'anthrone, un complexe de couleur verte. Après refroidissement, on note la densité optique de chacune des solutions, à 620 nm, en prenant la liqueur contenant de l'eau distillée pour établir le zéro optique du spectrophotomètre.

Pour évaluer la teneur en un sucre donné, on se reporte à la courbe étalon établie pour ce sucre. Les courbes étalons du glucose, du fructose, du saccharose et du raffinose sont différentes (fig. 5). Il est donc nécessaire de connaître la composition glucidique du matériel analysé, afin de pouvoir choisir la courbe étalon convenable.

Si la solution contient plusieurs sucres, l'interprétation quantitative devient difficile, car il faut attribuer un coefficient à chaque sucre, pour en calculer les teneurs respectives, ou bien, cas le plus fréquent, ne tenir compte que du sucre prédominant dans le mélange.

A titre d'exemple, l'analyse chromatographique des sucres des feuilles du cotonnier montrant que glucose et fructose sont présents en égale quantité, dans ce cas précis, l'analyste se reportera à la courbe étalon établie pour un mélange égal de glucose et de fructose (fig. 5).

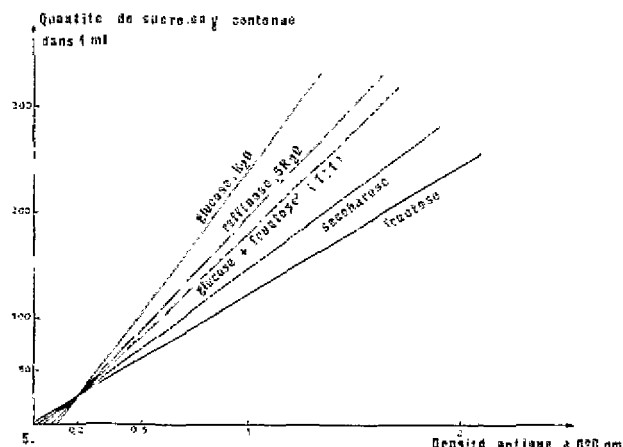


Fig. 5. — Dosage des sucres solubles totaux. Méthode à l'anthrone sulfurique. Courbes étalons de quelques sucres, constituants essentiels des organes du cotonnier ou de leurs dérivés.

Il est indispensable de connaître la composition glucidique du milieu pour choisir la courbe étalon convenable. Par exemple, pour les feuilles et les extraits de fibres, qui contiennent glucose et fructose en égale quantité, on utilise la courbe glucose + fructose (1 : 1).

Les résultats obtenus avec cette méthode sont sensiblement plus élevés qu'avec les méthodes chromatographiques, car d'autres substances organiques réagissent avec l'anthrone (SCOTT et MELVIN, 1957) et sont comptées comme des sucres.

L'intérêt de cette méthode réside dans le grand nombre d'échantillons que l'on peut traiter en une seule opération et dans sa grande sensibilité (elle permet de détecter 10 γ de sucre par ml de solution; 1 γ = 10⁻³ g). En outre, elle est extrêmement simple. Elle constitue une méthode d'appoint aux analyses chromatographiques, pour évaluer les teneurs en « sucres solubles totaux ».

V. METHODES ANALYTIQUES PARTICULIERES AUX SUBSTANCES QUI IMPREGNENT LES FIBRES DE COTON

DOSAGE DES MATIERES REDUCTRICES

Des problèmes de collage des fibres en filature ont été attribués à la présence de sucres, avec et en complément d'autres facteurs physicochimiques (humidité, température, impuretés organiques et minérales).

Les industriels qui reçoivent des fibres de coton de diverses origines sont désireux de savoir si elles sont collantes, afin de les mélanger éventuellement à d'autres fibres, pour constituer des lots homogènes qui ne colleront pas.

La connaissance de la teneur en sucres totaux est donc importante; celle de la nature de chacun des sucres et de leurs proportions respectives l'est également; elle permet, en effet, de définir, dans une certaine mesure, l'origine du dépôt sucré et, par là

même, d'envisager les moyens d'en empêcher la formation ou de la contrôler.

Les études entreprises sur les sucres des fibres intéressent donc les industriels, mais aussi la recherche cotonnière, l'entomologie et la technologie.

Plusieurs méthodes ont été proposées pour déterminer les sucres réducteurs des extraits aqueux de fibres de coton. On trouvera en Annexe II des méthodes spécialisées, mais d'un emploi peu courant (test de BENNETT, CLINITEST). Nous ne décrivons ici que les techniques les plus utilisées.

1. Méthode de Perkins (1972)

Cette méthode utilise la propriété des sucres réducteurs de transformer le ferricyanure de potassium en ferrocyanure. Ce dernier est titré par une solution acide de sulfate cérique, en présence d'O-phénanthroline ferreuse (ferroïne). La quantité de sulfate cérique utilisée est directement proportionnelle à celle du ferricyanure et, par conséquent, à celle des substances réductrices.

Mode opératoire

Dans un erlenmeyer de 125 ml, on verse un volume connu d'extrait de fibres. On le ramène à 20 ml avec de l'eau distillée. On ajoute 10 ml d'une solution renfermant 8 g de ferricyanure de potassium et 20 g de carbonate de sodium par litre. On porte le liquide à ébullition pendant exactement 2 minutes, puis on le refroidit.

On ajoute 2 ml d'une solution d'acide sulfurique dilué au demi et 2 gouttes d'O-phénanthroline ferreuse. On titre avec une solution N/20 de sulfate cérique contenant 30 ml d'acide sulfurique concentré par litre, en rajoutant une goutte de ferroïne juste avant le virage.

Le point final de la réaction est indiqué par un changement de couleur du brun gris au jaune verdâtre.

La concentration en glucose est calculée en se référant à une courbe étalon établie pour une solution renfermant 0,3 g de glucose par litre et avec des prises d'essai de 5, 10, 15 et 20 ml (cette courbe est identique pour le fructose et le glucose).

Le ferrocyanure de potassium a des propriétés oxydantes supérieures à celles du sulfate de cuivre et, par conséquent, cette méthode donne des valeurs un peu plus élevées que celles qui emploient le sulfate de cuivre (PERKINS, 1972).

Le seuil au-dessus duquel les fibres présentent le caractère collant en filature se situe, pour PERKINS, à 0,3 g de substances réductrices pour 100 g de fibres.

La difficulté de cette méthode réside dans l'évaluation du virage du brun au jaune verdâtre. On note, en effet, le plus souvent, une évolution progressive et non pas un changement brusque de couleur, ce qui peut donner lieu à des erreurs d'appréciation si l'on n'utilise pas une solution colorée de référence.

2. Méthode à la liqueur de Fehling adaptée par Massat (1)

Pour déterminer si une fibre de coton présente des risques de collage en filature, attribués à la présence de sucres, MASSAT utilise la réaction des sucres réducteurs sur la liqueur de FEHLING, dont la composition est la suivante :

Solution A :

sulfate de cuivre : 8,75 g,
acide sulfurique concentré : 2 ml,
eau distillée fraîchement préparée (exempte de CO_2) : Q.S.P. 250 ml.

Solution B :

sel de SEIGNETTE (WATTIEZ et STERNON, 1942) (dit également sel de ROCHETTE ou de ROCHELLE A.O.A.C., 1965) :

tartrate double de sodium et de potassium : 37,50 g,
lessive de soude 10 N : 75 ml,
eau distillée exempte de CO_2 : Q.S.P. 250 ml.

Les solutions A et B sont mélangées, à volume égal, au moment de l'emploi.

On triture longuement 5 g de fibres avec 50 ml d'eau distillée bouillante. On presse ensuite les fibres pour récupérer l'extrait aqueux. Après refroidissement, on verse successivement, dans une série de tubes à essai, 1, 2, 3, 4 et 5 ml d'extrait aqueux de fibres, puis 0,5 ml de liqueur de FEHLING. On ajoute de l'eau en quantité suffisante pour que le volume de liquide soit identique dans tous les tubes (5,5 ml).

Ces derniers sont alors plongés dans un bain-marie d'eau bouillante. Si l'échantillon est riche en sucres, deux phénomènes se produisent :

- la couleur du liquide passe du bleu au rouge ou au jaune ;
- une abondante floculation apparaît.

Le changement de coloration est dû à la réduction par les substances réductrices (dont les sucres) du sulfate de cuivre bleu, en solution, à l'état d'oxydure rouge Cu_2O , insoluble.

La floculation provient :

- en partie de la formation de l'oxydure ;
- pour la plus grande partie, de la précipitation tartroalcaline des impuretés contenues dans le liquide.

L'échantillon est d'autant plus riche en sucres que le processus précédent prend naissance avec un volume moindre d'extrait aqueux. Ainsi, lorsque la floculation et le changement de couleur ne se produisent pas avec une prise d'essai minimale de 5 ou 6 ml d'extrait aqueux (fig. 6, a), la fibre correspondante ne possède pas de sucres et ne devrait pas poser de problèmes en filature. Par contre, une fibre pour laquelle les réactions précédentes interviennent avec seulement 1,5 ou 2 ml d'extrait (fig. 6, b) est très riche en sucres et sera vraisemblablement collante.

(1) Technologiste à l'I.R.C.T.

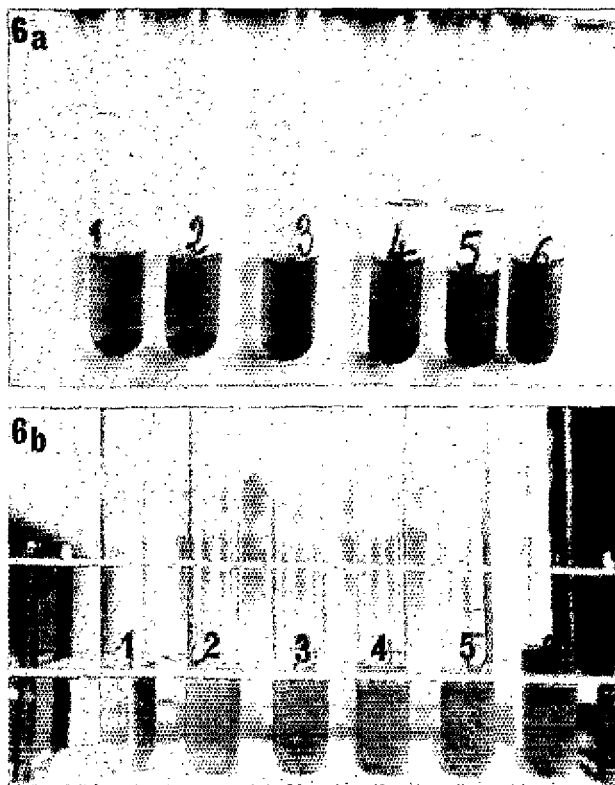


Fig. 6. — Application de la méthode de Fehling-Massat à des extraits aqueux de fibres commerciales de coton. 6a : aucune floculation ni décoloration ne se produit, quel que soit le volume d'extrait aqueux utilisé (1 à 6 ml). La fibre de coton correspondante ne renferme pas de sucres réducteurs. Elle ne doit pas poser de problèmes en filature.

6b : floculation et décoloration se produisent déjà avec seulement 2 ml et, a fortiori, avec 3, 4, 5 et 6 ml d'extrait aqueux. La fibre de coton correspondante est très chargée de sucres réducteurs.

La filature industrielle posera vraisemblablement de graves problèmes de collage.

Les nombreuses déterminations effectuées sur des fibres commerciales ne permettent pas d'établir une relation directe entre la teneur en sucres totaux (ou en un sucre donné) d'un échantillon et son caractère collant en filature.

Certaines fibres riches en sucres peuvent ne pas coller, alors que d'autres, bien que renfermant peu de sucres, poseront des problèmes en filature.

Il est cependant évident qu'un lot de fibres riches en sucres (plus de 0,300 g de sucres solubles totaux pour 100 g de fibres) possède un potentiel collant qu'il convient de ne pas mésestimer, alors qu'un échantillon « non sucré » a toutes les chances de ne poser aucun problème en filature.

Il semble bien que la répartition des sucres sur les fibres soit un facteur déterminant du collage. Sur

carde, nous avons constaté que le phénomène débute souvent en une zone ponctuelle, au niveau de petits nodules, composés de près de 50 % de sucres, et qui provoquent l'enroulement des fibres, en s'écrasant sur les parties métalliques de l'appareil.

VI. APPLICATIONS PRATIQUES RÉSULTATS ANALYTIQUES

Nous avons appliqué les différentes méthodes que nous venons de décrire à des extraits aqueux de fibres commerciales en provenance de divers pays. Les résultats figurent dans le tableau 2.

L'analyse statistique en blocs FISHER de ces résultats montre* que la méthode de PERKINS donne des valeurs significativement supérieures, à $p = 0,01$, à toutes les autres méthodes. Les méthodes chromatographiques ne diffèrent pas significativement l'une de l'autre (fig. 7) : la corrélation entre ces deux méthodes (sur papier et sur couches minces) est excellente ($r = 0,95$).

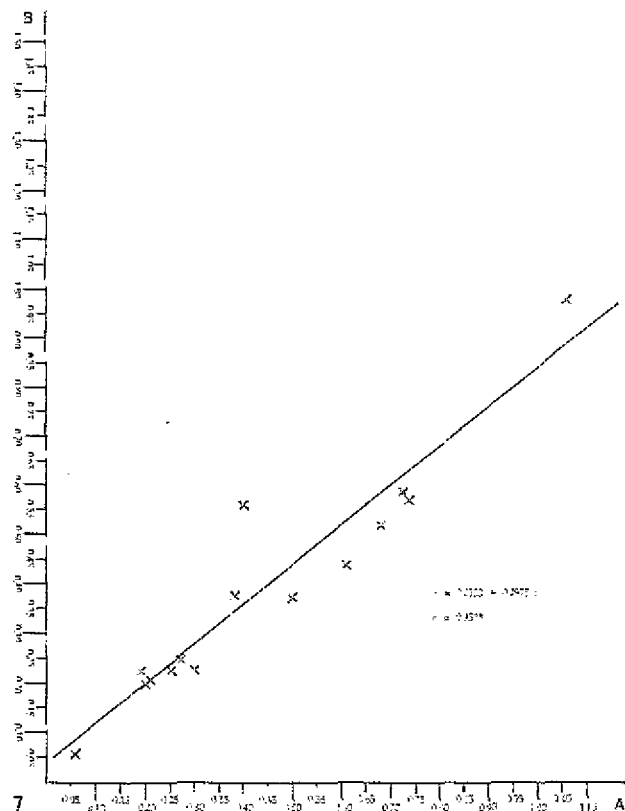


Fig. 7. — Droite de régression linéaire entre les résultats fournis par la chromatographie sur couche mince (A) et celle sur papier (B).

La corrélation entre ces deux méthodes est excellente ($r = 0,95$). La droite passe pratiquement par l'origine : La chromatographie sur papier sous-estime donc un peu les teneurs en sucres pour les valeurs élevées.

* Cette étude a été réalisée par MM. Joly et Piro, service Biométrie de l'I.R.C.T. à Montpellier.

Tableau 2. — Analyse glucidique d'extraits aqueux de fibres commerciales de coton
Résultats donnés en g de sucres pour 100 g de fibres telles quelles

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	Coton du Mali	Coton collant d'Israël	Coton d'Israël	Coton collant russe	Coton du Mali	Déchets de Cross- Roll russe	Coton du Mali	Coton collant du Mali	Coton russe	Coton d'Es- pagne	Coton d'Israël	Déchets de Cross- Roll	Déchets de Cross- Roll Afrique	Russie	Cross-Roll net- toyés au Shirley
Chromatographie															
sur papier :															
pentose non identifié								0,018	0,024						
glucose	0,115	0,150	0,025	0,093	0,148	0,185	0,100	0,096	0,103	0,106	0,122	0,155	0,256	0,200	0,202
fructose	0,187	0,309	0,019	0,103	0,080	0,203	0,096	0,055	0,042	0,235	0,067	0,110	0,301	0,186	0,151
saccharose	0,037	0,043	0,004	0,023		0,089	0,020	0,012	0,012	0,018	0,017	0,097	0,328	0,100	0,124
raffinose + mélézitose (1)	0,036	0,019	0,007	0,007		0,084	0,036	0,024	0,018	0,015	0,021	0,078	0,096	0,100	0,095
Sucres totaux	0,375	0,521	0,055	0,226	0,228	0,561	0,252	0,205	0,199	0,374	0,227	0,440	0,981	0,586	0,572
Chromatographie															
sur couches minces :															
pentose non identifié	0,020			0,010	traces	traces	traces	traces	traces		0,005	traces		0,100	0,100
glucose	0,120	0,260	0,025	0,150	0,125	0,180	0,140	0,110	0,100	0,140	0,100	0,250	0,220	0,250	0,250
fructose	0,210	0,400	0,025	0,130	0,110	0,180	0,120	0,100	0,090	0,350	0,080	0,250	0,320	0,260	0,270
saccharose	0,025	0,020	0,005	0,010	0,010	0,020	0,010	0,002	0,010	0,010	0,003	0,060	0,350	0,050	0,050
mélézitose (1)						0,010						0,010	0,170	0,015	0,020
raffinose						0,005						0,040		0,050	0,050
Sucres totaux	0,375	0,680	0,055	0,300	0,245	0,395	0,270	0,212	0,200	0,500	0,188	0,610	1,060	0,725	0,740
Méthode de Perkins	0,995	1,32	0,400	0,575	0,435	1,36	0,508	0,480	0,396	0,600	0,332	1,02	1,15	1,09	0,852
Méthode à l'anthrone															
sur solution															
non déféquée	0,544	0,688	0,428	0,256	0,216	1,44	0,336	0,240	0,152	0,464	0,224	0,688	0,880	0,816	0,840
déféquée	0,633	0,691	0,369	0,230	0,230	1,25	0,355	0,230	0,154	0,500	0,192	0,787	0,710	0,787	0,768
Méthode Fehling-Massat (2)															
1 ml	B 1+	B 1+				B D							B D	B D r	B
2 ml	r 1++	r 1+				J 1+				r 1			J 1	J D	B 1
3 ml	J 1++	J 1	B	B r D	B r D	J 1++	B r 1+	B 1+	B 1	r 1	B D	r 1	J 1	J 1	J 1
4 ml			B	r 1	J 1+		r 1+	B 1	B 1	J 1++	B 1+	J 1++			
5 ml			B r	J 1	J 1		J 1+	r 1+	B 1+		r 1				
6 ml			B r												
Extrait sec, en g	3,08	4,06	4,12	3,90	3,69	3,76	3,15	3,36	4,00	5,06	3,32	5,77	6,26	5,50	4,76
% g de fibres															
pH de l'extrait aqueux	6,0	6,6	7,7	6,7	6,9	7,3	6,8	7,4	6,8	6,3	6,9	6,9	6,8	6,8	7,2
(50 ml d'eau pour 5 g de fibres)															

(1) Rappelons que la chromatographie sur papier ne fait pas la distinction entre mélézitose et raffinose, alors que la chromatographie sur couches minces dose séparément ces deux oligosaccharides.

(2) Explication des signes employés :

B : le liquide reste bleu.

r : le liquide est légèrement rosé.

D : indique la présence d'un trouble dans le liquide, mais l'absence de précipité.

J : le liquide devient jaune.

1 : présence d'un précipité rouge, 1+ peu abondant, 1+ abondant, 1++ très abondant.

L'application de la méthode à l'anthrone fournit des résultats comparables sur solution déféquée ou non déféquée; par conséquent, la défécation des impuretés contenues dans les extraits aqueux de fibres n'améliore pas sensiblement la précision des déterminations. Par rapport à la chromatographie sur couches minces, les valeurs sont surestimées pour les faibles teneurs, mais sous-estimées pour les fortes teneurs; l'exactitude de la liaison, bien que significative, à $p = 0,05$, est médiocre ($r = 0,60$).

On note, d'autre part, que les sucres des extraits aqueux de fibres sont essentiellement constitués de glucose et de fructose, ce dernier étant souvent prédominant. La teneur en saccharose est rarement élevée, sauf pour l'échantillon n° 13 (déchets de « Cross Roll »); mélézitose et raffinose existent, le plus souvent, à l'état de traces.

L'extrait sec total est important (4 à 5 %) lorsque les fibres sont très souillées de matières incrustantes. Le pH des liquides d'extraction est généralement proche de la neutralité ou légèrement acide. Des pH élevés, de 8 à 9, sont fréquents lorsque les fibres ne possèdent pas de sucres.

1. L'origine des dépôts sucrés chez le cotonnier

a) Les sucres des fibres

Notre étude montre que certaines fibres (l'échantillon n° 3 du tableau 2, par exemple) sont peu chargées de sucres. Il était important de rechercher quelle est l'origine de ces sucres et tout d'abord de se demander si les fibres ne renferment pas naturellement des sucres, à l'intérieur même de la capsule d'où elles sont issues. Pour cela, des capsules de cotonnier ont été ensachées, dès leur formation et jusqu'à leur ouverture, sans contamination extérieure. Les fibres qu'elles contiennent ont été égrenées mécaniquement. L'analyse moyenne de 14 échantillons s'établit ainsi :

— Extrait sec total	= 2,93
(en g de matières extractibles à l'eau bouillante, pour 100 g de fibres telles quelles)	
— pH du liquide d'extraction	= 7,05
(50 ml d'eau distillée pour 5 g de fibres)	
— Glucose	= 0,123
— Fructose	= 0,128
— Saccharose	= 0,023
— Mélézitose	= traces
— Raffinose	= traces

Sucres solubles totaux en g pour 100 g de fibres telles quelles 0,274

Les fibres de coton sont donc naturellement chargées de sucres, à l'intérieur même de la capsule, sans intervention d'agents extérieurs. Elles possèdent essentiellement du glucose et du fructose, ce dernier étant légèrement prédominant. Elles contiennent très peu de saccharose et parfois des traces de mélézitose et de raffinose.

Lorsque les fibres renferment des taux élevés de

sucres, il faut admettre qu'elles en ont été imprégnées après l'ouverture de la capsule. L'origine de ces dépôts sucrés doit être recherchée.

b) Les sucres du cotonnier; miellées et miellats

Les nectaires sont des glandes externes qui sécrètent un liquide sucré (nectar ou miellée). Elles existent à l'intérieur et à l'extérieur de la fleur (MOUND, 1962) et dans de petites dépressions situées sous les nervures foliaires.

Des insectes parasites se nourrissent de sucres et, à leur tour, laissent échapper des liquides sucrés (miellats). Certains insectes tel le *Thrips* (*Caliothrips* sp.) absorbent les substances déposées à la surface des organes de la plante (MOUND, 1962). D'autres, la mouche blanche (*Bemisia tabaci*) et le jasside (*Empoasca lybica*), sont des insectes piqueurs, suceurs de sève, qu'ils vont puiser dans les tissus conducteurs de l'hôte. Le puceron (*Aphis fabae*, *Aphis rumici*) effectue plusieurs types de piqûres :

- des piqûres intracellulaires dans le parenchyme ;
- des piqûres intracellulaires aboutissant au phloème ;
- des piqûres intercellulaires, en suivant la lamelle moyenne des cellules, les stylets aboutissant au phloème (GHOVANLOU, 1964).

Aphis gossypii produit en abondance des exsudats sucrés qui recouvrent les feuilles et les autres organes du cotonnier d'une couche luisante et poisseuse et fournit un milieu favorable à des champignons microscopiques (DELATTE, 1973).

Bemisia (*Aleyrodidae*) provoque, de la même manière que le puceron, des dégâts directs, par l'excrétion anale d'une substance sucrée qui, projetée et répandue sur les feuilles et sur les capsules ouvertes, colle la fibre et la souille par le développement de champignons microscopiques (*Cladosporium* sp.) d'aspect noirâtre, la fumagine (DELATTE, 1973).

Eurystylus (Miridés) pique les boutons floraux et laisse des déjections liquides jaunâtres typiques (DELATTE, 1973).

Ces quelques exemples montrent que la biologie et le mode de nutrition des insectes prédateurs conditionnent la nature des miellats produits sur la plante; l'insecte rejette, en effet, son excédent de nourriture, dont la composition est différente selon l'origine: surface foliaire, parenchyme ou tissus conducteurs du cotonnier. De plus, les insectes qui absorbent la sève directement à partir des tissus de l'hôte y injectent une salive toxique, chargée de substances enzymatiques qui transforment localement les constituants de la plante (GHOVANLOU, 1964). Des substances glucidiques non préexistantes peuvent alors être sécrétées par les cellules végétales blessées.

En résumé, quatre types de dépôts sucrés peuvent être récoltés sur les organes du cotonnier :

- des exsudats (nectars, miellées) issus de glandes nectarifères et de cellules végétales saines, spécialisées ;

Tableau 3. — Résultats d'analyses, par chromatographie sur couche mince, des sucres de quelques dérivés du cotonnier

Dénomination de l'échantillon	Glucose	Fructose	Saccharose	Mélézitose	Raffinose	Stachyose	Sucres totaux
(1) Feuille jeune entière	52 % 2,6	48 % 2,4	traces				5 g % g de feuilles *
(2) Nervure de feuille (formation cribo-vasculaire détachée à la main du limbe)	38 % 1,57	38 % 1,57	24 % 1				4,14 g % g de nervure
(1) Sucres imprégnant l'intérieur d'une capsule âgée de 20 à 30 jours	48 % 2,57	49 % 2,57	3 % 0,2				5,34 g % capsule à 86 % d'humidité
(2) Nectar, sous la nervure principale de la feuille (miellée)	43 % 25,80	43 % 25,80	14 % 8,4		81,3 % 3,740	7,39 % 0,340	60 g % g de nectar
(1) Sucres solubles de graines glandless			11,3 % 0,520				4,6 g % g de graines à 7 % d'humidité
(2) Sucres solubles de farine délipidée d'amandes de graines glandless			17 % 1,530		83 % 7,470	traces	9 g % g de farine *
(1) Miellat récolté sur feuilles infestées par <i>Aleyrodidae</i> (culture en serre)	15 % 5,10	25 % 8,5	40 % 13,6	20 % 6,8			34 g % g de miellat
(2) Miellat récolté sur <i>Aleyrodidae</i> élevés, en serre, sur Cotonnier	28 %	32 %	30 %	10 %			
(3) Miellat de fibres commerciales du Tchad souillées par <i>Bemisia tabaci</i>	29 % 3,48 0,087	29 % 3,48 0,087	26 % 3,12 0,078	16 % 1,92 0,048			12 g % g de miellat ou 0,3 g % g de fibres
(3) Miellat de fibres commerciales du Tchad souillées par <i>Aphis gossypii</i>	20 % 3,40 0,080	25 % 4,25 0,100	39 % 6,63 0,156	16 % 2,72 0,064			17 g % g de miellat ou 0,4 g % g de fibres
(3) Miellat de fibres commerciales du Cameroun polluées par <i>Aphis gossypii</i>	35 % 3,742 0,119	35 % 3,742 0,119	15 % 1,603 0,051	15 % 1,603 0,051			10,69 g % g de miellat 0,34 g % g de fibres
(3) Miellat de fibres ayant collé en filature (moyenne de dix échantillons commerciaux)	45 % 4,431 0,148	50 % 4,970 0,166	5 % 0,479 0,016	traces traces traces	traces traces traces		9,88 g % g de miellat 0,33 g % g de fibres
(3) Déchets de « Cross-Roll », en usine (moyenne de quatre échantillons de fibres)	33 % 0,241	38 % 0,277	17,5 % 0,128	7 % 0,051	4,5 % 0,033		0,73 g % g de déchets

Mode d'extraction des sucres ou des miellats :

(1) Deux extractions, de 30 minutes, à l'éthanol à 80° G.L., à ébullition, au reflux. L'extrait est ensuite concentré à sec à l'évaporateur rotatif, sous vide.

(2) Extraction à l'eau distillée froide.

(3) Extraction à l'eau distillée bouillante.

Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en pourcentage de chacun des sucres par rapport à la somme de tous les sucres, ramenée à 100, et en grammes de chaque sucre pour 100 grammes de matière première (feuille, graine, etc.) telle quelle ou à 0 % d'humidité.

- des substances issues primitivement de la plante, ingérées puis rejetées par les insectes (miellats);
- des substances d'origine végétale interne, transformées par les enzymes salivaires des insectes;
- des matières sucrées provenant directement de cellules végétales blessées par les piqures d'insectes.

2. Résultats d'analyses de diverses substances dérivées du cotonnier

Nous avons analysé les sucres issus de divers organes du cotonnier, de leurs dérivés, graines, farines et fibres et de déjections d'insectes parasites, afin de rechercher si une composition glucidique particulière était commune à certains organes du cotonnier et aux miellats, ou si certains sucres ou l'association de plusieurs sucres, d'origine bien précise, caractérisaient les miellats.

Les résultats figurent dans le tableau 3.

Les principales observations que l'on peut formuler à l'examen de ce tableau sont les suivantes :

- quel que soit l'échantillon analysé, à l'exception des graines et des farines, on note toujours la présence de glucose et de fructose, en quantité sensiblement égale, le fructose étant le plus souvent prédominant;

- l'origine du glucose et du fructose présents dans les miellats et les déjections des insectes parasites doit être recherchée dans les organes végétaux, capsule, feuille, nervure et dans le nectar;
- le mélézitose n'existe dans aucun organe du cotonnier. Sa présence implique l'intervention d'insectes prédateurs;
- l'abondance du saccharose dans les miellats et les extraits de fibres est directement liée à l'intensité du parasitisme. L'échantillon qui en contient le plus (40% des sucres totaux) est un miellat récolté sur feuilles infestées par *Aleyrodidae* élevés en serre;
- la présence du raffinose n'a aucune liaison avec le parasitisme. La seule source de ce sucre est la graine ou l'amande. Cette observation confirme l'intérêt de pouvoir différencier cet oligosaccharide du mélézitose qui est dû aux insectes parasites;
- les miellats produits par les *Aleyrodidae* (*Bemisia*) et par les pucerons (*Aphis*) ont une composition chimique pratiquement identique;
- graines, amandes, farines ne contiennent que des oligosaccharides. Elles sont totalement dépourvues de glucose et de fructose (quand les graines sont récoltées à un stade de maturité convenable).

CONCLUSIONS

Plusieurs méthodes chimiques sont particulièrement bien adaptées à l'analyse des sucres du cotonnier et de ses dérivés, graines, farines, fibres.

La méthode colorimétrique à l'anthrone fournit les sucres solubles totaux avec une bonne approximation, si l'on connaît les pourcentages relatifs des différents sucres qui composent le matériel analysé.

La chromatographie sur couches minces de gel de silice tamponnées par l'acide borique permet, en une seule opération, de séparer, d'identifier et de doser glucose, fructose, saccharose, mélézitose, raffinose et stachyose qui sont les sucres solubles essentiels des dérivés du cotonnier. Une variante de ce procédé (tampon des plaques de gel de silice par le phosphate monosodique) s'adresse plus particulièrement au dosage des pentoses, des hexoses, du saccharose et du mélézitose. Glucose et fructose se différencient sans ambiguïté grâce à leurs colorations spécifiques et à leurs positions respectives sur le chromatogramme. Mélézitose et raffinose, qui ont des R_f très différents, se distinguent aisément l'un de l'autre, ce qui est fondamental pour la recherche, car ces deux oligosaccharides n'ont pas la même origine (bien qu'ayant la même formule chimique globale). Ils sont fréquemment confondus par d'autres méthodes chromatographiques (chromatographie sur papier, par exemple).

Plusieurs méthodes simples peuvent être utilisées pour évaluer la teneur en sucres réducteurs et le caractère collant des fibres de coton en filature. Parmi celles-ci, les techniques utilisant le sulfate de cuivre sont les plus intéressantes.

L'application de ces méthodes analytiques à des extraits aqueux de fibres commerciales nous a permis de les comparer à la chromatographie sur couches minces, considérée comme la méthode de référence.

L'analyse chromatographique des sucres de divers organes du cotonnier, de leurs dérivés, graines, farines et fibres, et de déjections d'insectes parasites, fournit des informations pratiques importantes sur l'origine et la nature des miellats. Glucose et fructose sont les constituants glucidiques solubles principaux des organes végétatifs du cotonnier, des miellats et des miellées, qui en sont issus.

Le saccharose est toujours présent, mais en quantité variable, dans les organes du cotonnier. Son abondance dans les miellats est liée à l'intensité du parasitisme.

Le mélézitose n'existe pas naturellement dans le cotonnier; sa présence implique l'intervention d'insectes (*Aphis*, *Bemisia*). Par contre, le raffinose, constituant glucidique soluble principal des graines, est un oligosaccharide d'origine exclusivement végétale. Sa présence éventuelle dans des extraits de fibres de coton indique que celles-ci ont été souillées par des débris d'amandes ou de graines.

Quels que soient les parasites qui interviennent dans leur formation, les miellats ont toujours une composition glucidique voisine. Ils sont essentiellement constitués de glucose et de fructose puis, en plus faible proportion, de saccharose et, pour une plus faible part encore, de mélézitose. Nous n'avons pas mis en évidence de sucre particulier pouvant caractériser le miellat produit par un insecte déterminé.

ANNEXE 1

Quelques applications des techniques chromatographiques au dosage des sucres chez les végétaux

Les techniques chromatographiques sont très précieuses pour doser les sucres des graines des plantes alimentaires. On sait que certains d'entre eux, comme le raffinose et le stachyose, présents dans les farines délipidées du cotonnier (AMUTI et POLLARD, 1977), du soja (BLACK et BAGLEY, 1978) et d'autres espèces (CEGLA et BELL, 1977), provoquent des phénomènes de flatulence chez les animaux monogastriques qui ne possèdent pas d'alpha-galactosidase nécessaire à leur hydrolyse, donc à leur digestion. Il est par conséquent indispensable, pour le nutritionniste comme pour l'analyste, de pouvoir différencier le stachyose et le raffinose des autres sucres.

AMUTI et POLLARD (1977) séparent les oligosaccharides de graines de diverses espèces de plantes par chromatographie sur papier, les éluent après développement du chromatogramme et les dosent par la méthode à l'anthrone (tableau 4).

PASCUAL et coll. (1978) isolent les sucres libres des graines du riz par différentes techniques chromatographiques, sur colonne, sur papier et sur couches minces. Ils les dosent par des méthodes enzymatiques ou à l'anthrone.

Toujours par chromatographie sur papier, RAO et BELAVADY (1978) isolent les oligosaccharides de graines de légumineuses et les dosent, après élution sur le chromatogramme, par la méthode du phénol sulfurique (DUBOIS et coll., 1956).

Remarquons que, dans les exemples qui précèdent, la chromatographie sur papier permet seulement l'identification et l'isolement des sucres. Une technique complémentaire doit être appliquée: élution des taches sur le chromatogramme, récupération des différents sucres et dosages de ces derniers à l'aide d'un réactif spécifique (méthode enzymatique) ou non spécifique (méthodes au phénol sulfurique ou à l'anthrone).

Grâce à l'utilisation de solutions de sucres témoins de concentration croissante, chromatographiés en même temps que les extraits de fibres, VAUTHIER (1971) rend la chromatographie sur papier quantitative, pour doser les sucres responsables du collage des fibres de coton en filature.

La chromatographie sur couche mince offre, sur la chromatographie sur papier, l'avantage d'être plus rapide et de permettre une identification plus facile et meilleure.

De nombreuses techniques sont proposées (CHAMPAGNOL et BOURZEIX, 1971; HANSEN, 1975; DOAT, 1974).

L'analyse quantitative est basée sur:

1. L'estimation visuelle de la dimension, de la couleur et de l'intensité des taches.
2. La «révélation» des taches colorées sur le chromatogramme, leur extraction et leur dosage colorimétrique.

3. L'extraction de chaque sucre sur le chromatogramme; la formation d'une réaction colorée avec un réactif approprié, puis la mesure colorimétrique.
4. La densitométrie: pulvérisation d'un réactif sur le chromatogramme pour révéler les taches colorées. Estimation des taches avec un densitomètre.
5. L'utilisation d'isotopes et la mesure de la radioactivité (TOUCHSTONE, 1973).

A titre d'exemple, la séparation des oligosaccharides des graines du soja et du pois est effectuée par TANAKA et coll. (1975) par chromatographie sur couche mince de cellulose. Le dosage proprement dit est réalisé (après élution des sucres sur le chromatogramme), par une méthode colorimétrique à l'acide thiobarbiturique en milieu chlorhydrique (PERCHERON, 1962).

La chromatographie en phase liquide permet, en une seule opération, de séparer, d'identifier et de doser quantitativement les sucres en solution dans un solvant approprié.

C'est ainsi que DERMINOT et TARDHOMME (1977) analysent les sucres issus de l'hydrolyse des fibres du lin, sur une chaîne analytique automatique (Technicon), équipée d'une colonne de résine DOWEX 1×4 ; le dosage proprement dit est réalisé par la mesure colorimétrique en continu de l'éluat avec, comme réactif, l'orcinol en solution dans l'acide sulfurique.

CEGLA et BELL (1977) évaluent les carbohydrates solubles de farines délipidées de graines oléagineuses (cotonnier, pois, soja, tournesol) par chromatographie liquide à haute pression (HPLC). Ils utilisent deux types de colonnes (polyacrylamide et micro-BONDAPAK) et, comme éluant, un mélange d'acétonitrile et d'eau (tableau 5).

Dans des conditions opératoires très voisines, BLACK et BAGLEY (1978) dosent le saccharose, le raffinose et le stachyose de farines délipidées de graines de soja.

La chromatographie en phase gazeuse des sucres est possible en leur fixant des radicaux silylés qui les rendent volatils. Cette méthode se prête mal à l'analyse quantitative, surtout lorsque l'on dose des oses en mélange avec des oligosaccharides. En effet, chaque monose donne naissance à plusieurs pics dont certains sont confondus (l'un de ceux du glucose et du fructose, par exemple); de plus, le dosage des bi et trisaccharides nécessite une programmation de température qui complique considérablement les conditions opératoires.

Cette méthode est néanmoins utilisée par SABBE et CATHEY (1970), pour analyser les sucres des feuilles du cotonnier, par DELENTE et LADENBURG (1972), pour doser le saccharose, le raffinose et le stachyose des farines délipidées du soja, par PERKINS et coll. (1978) et par ROBERTS et coll. (1978), pour évaluer les substances organiques imprégnant les fibres de coton.

(1) Ce matériel est vendu en pharmacie pour détecter la présence du glucose dans les urines.

Auteurs	Support	Solvant	Réactifs utilisés selon la fonction des sucres : aldéhyde	cétone
VAUTIER 1971	papier Schleicher et Schüll	phase supérieure du mélange n-butanol/acide acétique/eau (4 : 1 : 5)	aniline/acide O-phthalique cristallisé/n-butanol saturé d'eau à 90° G.L. (0,93 g : 1,66 g : 100 ml)	urée/HCl 2N/alcool éthylique (5 g : 20 ml : 80 ml)
AMUTI et POLLARD 1977	papier Whatman n° 4	n-butanol/pyridine/eau (6 : 4 : 3) alcool isopropylique/ acétate d'éthyle/eau (7 : 1 : 2) alcool isopropylique/ acétate d'éthyle/eau (3 : 5 : 1)	acide phosphorique + diphenylamine + aniline	acide phosphorique + alpha naphтол
PASCUAL et coll. 1978	résine Dowex 50 W x 4	eau	O	O
	papier Whatman n° 1	1 butanol/pyridine/eau (6 : 4 : 3) et 1 butanol/acide lactique/eau (4 : 1 : 5)	aniline + acide phthalique ou benzidine + acide trichloroacétique	naphtorésorcinol
	couche mince de cellulose	1 propanol/acétate d'éthyle/eau (6 : 1 : 3)		acide phosphorique + alpha naphтол
	couche mince de gel de silice	2 propane/acétone/ acide lactique N (4 : 4 : 2)	solution de diphenylamine et d'aniline	
RAO et BELAVADY 1978	papier Whatman n° 1	propanol/éthanol/eau (70 : 10 : 20)	non spécifiés	
CHAMPAGNOL et BOURZEIX 1971	couche mince de cellulose	phase supérieure du mélange n-butanol/acide acétique/eau (4 : 1 : 5)	acide tartrique/aniline/ butanol saturé d'eau (1,5 g : 0,93 ml : 100 ml)	aldéhyde anisique/ alcool éthylique/ acide sulfurique d = 1,3/ acide acétique (5 ml : 90 ml : 5 ml : 1 ml)
HANSEN 1975	couche mince de gel de silice tamponnées par NaH ₂ PO ₄ 0,5 M	isopropanol/acétone/ acide lactique 0,1 M (4 : 4 : 2)	aniline/diphenylamine/acétone/acide phosphorique 80 % (4 ml : 4 g : 200 ml : 30 ml)	
IANKA et coll. 1975	couche mince de cellulose	n-propanol/acétate d'éthyle/eau (6 : 1 : 3)		réactif à l'alphanaphtol

tenus par chromatographie par différents auteurs

Sucres séparés	Méthode analytique complémentaire	Matériel analyse
glucose, rhamnose, xylose, mannose d'un côté fructose, saccharose, raffinose d'autre part raffinose et mélézitose non séparés	utilisation de solutions témoins de diverses concentrations	extrait aqueux de fibres de coton
saccharose, raffinose, stachyose, verbascose et ajugose	élution des spots chromatographiques, puis : sucres totaux = méthode à l'anthrone ; glucose = méthode enzymatique (glucose oxydase) ; fructose = réactif au résorcinol	sucres solubles de graines, sèches ou en cours de germination, de diverses plantes (légumineuses, crucifères, malvacées, etc.)
collection des fractions et dosages des sucres totaux de chaque fraction par la méthode à l'anthrone identification des sucres des diverses fractions par chromatographie sur papier et sur couche mince		sucres solubles de grains de riz
glucose, fructose, saccharose, oligosaccharides	méthodes enzymatiques + méthode à l'anthrone	
glucose, fructose, galactose, saccharose, oligosaccharides		
glucose, fructose, saccharose, raffinose (verbascose + stachyose) séparation incomplète du verbascose et du stachyose	méthode au phénol sulfurique	sucres des graines de quatre variétés de légumineuses consommées en Inde évolution au cours de la germination
ribose, fructose, glucose, saccharose, maltose, raffinose	évaluation photodensitométrique	extraits végétaux (non spécifiés)
28 sucres différents fructose + glucose ; saccharose + fructose ne sont pas séparés	O	sucres purs
saccharose, raffinose, stachyose	élution des spots chromatographiques et dosage colorimétrique avec l'acide thiobarbiturique en solution chlorhydrique	oligosaccharides de graines de légumineuses

Tableau 5. — Teneur en carbohydrates solubles de farines délipidées
de quelques graines oléagineuses (d'après CEGLA et BELL, 1977)
(résultats exprimés en g pour 100 g de farine délipidée, à 0 % d'humidité)

Matériel utilisé	Sucres totaux *	Glucose	Raffinose	Stachyose	Sucrose (saccharose)	Tréhalose
<i>Cotonnier</i>						
— classique (procédé du cyclone liquide)	9,2	traces	7,93	0,95	2,41	
— glandless	16,1	traces	11,95	0,68	2,62	
<i>Pois</i>						
— expérimental		2,34	traces		5,52	
— commercial	17,4	2,12	traces		7,70	
<i>Soja</i>	16,3	traces	1,25	6,30	7,80	
<i>Tournesol</i>	8,3	0,60	3,22		2,29	0,79

* Les sucres totaux sont dosés par la méthode de DUBORS (1956) au phénol sulfurique.

Remarquons, enfin, que les aldoses (glucose, galactose, etc.) peuvent être analysés, en phase gazeuse, à partir de leurs dérivés alditol acétates (SAWARDEKER et coll., 1965). Cette méthode ne se prête pas à la détermination des cétooses ni à celle des polyolsides.

Une détermination rapide et semi-quantitative des teneurs en glucose peut être réalisée en utilisant des bandelettes réactives CLINISTIX (AMES-MILES Laboratoire-Inc.). Ce matériel se présente sous forme de petits rubans de matière plastique dont une extrémité comporte une zone colorée qui change de couleur en présence de glucose.

ANNEXE 2

Méthodes chimiques rapides et simples pour évaluer les matières réductrices et les sucres des extraits aqueux de fibres de coton

a) Méthode basée sur des réactions enzymatiques - Clinistix (1)

Il suffit de verser une goutte de liquide à analyser sur la partie réactive de la bandelette et d'observer la couleur obtenue après 10 secondes.

En fonction de la teneur en glucose de la solution, on obtient la gamme suivante de coloration :

Teneur en glucose de la solution en grammes par litre	Test colorimétrique indiqué			Couleur réellement observée
	clair	moyen	foncé	
10			+	noire
5			+	bleue, virant rapidement au noir
2,5	+	couleur mauve soutenue ; ne fournit pas d'indication quantitative	+	bleue marine, virant peu à peu au noir
1	+			bleue (couleur stable)
0,5	+			bleue, légèrement mauve
0,2	+			mauve, virant peu à peu au bleu
0,1	+			mauve, stable
moins de 0,1				rose

(1) Ce matériel est vendu en pharmacie pour détecter la présence du glucose dans les urines.

Le principe de cette méthode est une réaction enzymatique: la zone réactive est imprégnée d'un mélange de glucose-oxydase, de peroxydase et d'un chromogène. En présence de glucose-oxydase, l'oxygène de l'air oxyde le glucose avec formation d'acide gluconique et de peroxyde d'hydrogène. La peroxydase décompose le peroxyde d'hydrogène et libère l'oxygène actif qui transforme le chromogène en un dérivé coloré violacé.

La réaction dépend de la présence d'inhibiteurs, de la température et du pH. Elle ne se produit qu'avec le glucose. Fructose, saccharose, mélézitose et raffinose, en particulier, ne sont absolument pas réactifs.

Cette méthode n'est donc pas particulièrement adaptée à l'analyse des sucres des extraits de fibres qui renferment ces différents sucres.

b) Méthodes basées sur la réduction du sulfate de cuivre

1. Test de Benedict

Cette méthode est utilisée dans les filatures salvadoriennes. On fait agir, dans un tube à essai, trois volumes d'extrait de fibres avec un volume de liqueur de BENEDICT, dont la composition est la suivante:

Solution A

citrate trisodique	193 g
carbonate de soude	100 g
eau distillée	800 ml

Solution B

sulfate de cuivre	17,3 g
eau distillée	100 ml

(les deux solutions A et B sont mélangées et ramenées à 1 000 ml)

On porte le tube à essai au bain-marie à ébullition. Le réactif bleu clair change de couleur en présence de sucres réducteurs; on évalue la teneur en sucres réducteurs de l'échantillon d'après la couleur du liquide.

Teneur en sucres (exprimée en gramme de sucres réducteurs pour 100 g de matières)	Couleur correspondante	Incidence probable en filature
0	bleu royal	aucun incident prévisible
0,250	vert foncé	possibilité de difficultés de fabrication
0,500	vert pâle	enroulement probable
0,750	brun verdâtre	collage certain
1	brun pâle	collage certain

(1) Ces comprimés sont vendus en pharmacie pour évaluer la teneur des sucres dans les urines.

Couleur du liquide	Evaluation de la richesse en sucres. Comportement probable de l'échantillon de fibres en filature
Bleue	Absence de sucres; pas de collage
Verte	Peu de sucres
Verte brune	Limite de tolérance en sucres; collage possible
Jaune moutarde	Beaucoup de sucres; collage plus que probable
Orange	Grande abondance de sucres; collage plus que probable

2. Clinitest (1)

Cette méthode est localement employée dans l'industrie textile, notamment en Tunisie.

Elle utilise des comprimés de CLINITEST (1) (AMES-MILES Laboratoire Inc.) qui contiennent l'ensemble des produits chimiques nécessaires.

A l'aide d'un compte-gouttes, on verse dans un tube à essai, sur un comprimé, 5 gouttes d'extrait aqueux de fibres, puis 10 gouttes d'eau. Une ébullition se produit pendant laquelle on observe attentivement la réaction, sans agiter le tube. Quinze secondes après la fin de l'ébullition, on agite légèrement le tube et on compare la couleur de la solution avec le tableau des coloris fourni avec les comprimés.

Cette méthode dose l'ensemble des matières réductrices, dont les sucres (glucose, fructose) ne constituent qu'une partie. Elle ne fournit donc, comme les méthodes précédentes, qu'une valeur indicative et approximative pour évaluer les teneurs réelles en sucres des extraits de fibres.

3. *Un test colorimétrique qualitatif est utilisé par JENNINGS (1953) pour mettre en évidence la présence de zones polluées par des miellats, directement sur des échantillons de fibres de coton*

On pulvérise sur l'échantillon de coton une solution de BENEDICT (dont la composition est donnée plus haut). On chauffe ensuite la fibre à l'aide d'un jet de vapeur d'eau, dirigé avec un tube en acier, pour réduire les ions cuivriques.

Si le coton est très contaminé par du miellat, on observe des taches oranges sur fond bleu clair.

On pulvérise ensuite, avec un appareil en verre, une solution d'acide phosphomolybdique que l'on prépare de la manière suivante :

— Dans un bécher de 1 l, on dissout 35 g d'acide

molybdique dans 200 ml de solution de soude à 10 % et 200 ml d'eau distillée. On fait bouillir le mélange pendant 40 minutes. Après refroidissement, on dilue à 350 ml et on ajoute 125 ml d'acide phosphorique à 85 %. On ramène ensuite à 500 ml en mélangeant le tout.

La solution acide incolore réagit avec la solution de BENEDICT pour donner une solution également incolore. Les zones de l'échantillon de coton non contaminées demeurent donc incolores. Par contre, l'acide phosphomolybdique agit sur les petites quantités d'oxydure de cuivre formées au contact du miellat pour donner une intense couleur bleue. Cette couleur bleue se distingue très facilement de la solution bleu clair de BENEDICT qui demeure éventuellement sur le coton, si l'on n'a pas pulvérisé suffisamment de solution d'acide phosphomolybdique.

BIBLIOGRAPHIE

- A.O.A.C., 1965. — Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists. W. Horwitz ed. Pub. by A.O.A.C. Benjamin Franklin Station Washington D.C.
- A.O.C.S., 1958. — Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society. E.M. Salles ed. A.O.C.S. Chicago Illinois.
- AMUTI K.S. and C.J. POLLARD, 1977. — Solubles carbohydrates of dry and developing seeds. *Phytochem.*, 16, 529-532.
- BACON J.S.D. and B. DICKINSON, 1957. — The origin of melezitose: a biochemical relationship between the lime tree (*Tilia* spp.) and an Aphid (*Eucalyppterus tiliae* L.). *Biochem.*, 66, 289-297.
- BLACK L.T. and E.B. BAGLEY, 1978. — Determination of oligosaccharides in soybeans by high pressure liquid chromatography using an internal standard. *J.A.O.C.S.*, 55, 2, 228-232.
- BOSI G., 1973. — Méthode rapide pour la détermination par chromatographie en phase gazeuse des glucides du nectar. Technique du prélèvement du nectar et de préparation des éthers triméthyl silylés en présence d'eau. *Apidologie*, 4, 1, 57-64.
- BOURDON D. et H. GIELFRICH, 1972. — Observations sur la méthode de Gabriel BERTRAND pour le dosage des sucres réducteurs. *Sc. Agron., Chimie E.N.S.A., Rennes*.
- BREWER J.W., K.J. COLLYARD and C.E. LOTT Jr. — Analysis of sugars in dwarf mistletoe nectar. *Can. J. Bot.*, 52, 2533-2538.
- BROWNING B.L., 1967. — Methods of wood chemistry, vol. 2. John WILEY ed.
- BRUNEL A., 1949. — Traité pratique de chimie végétale. Imprimerie Georges Frères, Tourcoing.
- BUTLER G.D. Jr., G.M. LOPER, S.E. Mc. GREGOR, J.L. WEBSTER and H. MARGOLIS, 1972. Amounts and kinds of sugars in the nectars of cotton (*Gossypium* sp.) and the time of their secretion. *Agron. J.*, 64, 364-368.
- CEGLA G.F. and K.R. BELL, 1977. — High pressure liquid chromatography for the analysis of soluble carbohydrates in defatted oil seed flours. *J.A.O.C.S.*, 54, 4, 150-152.
- CHAMPAGNOL F. et M. BOURZEIX, 1971. — Identification des sucres contenus dans un extrait végétal et évaluation de leurs teneurs individuelles par chromatographie et photodensitométrie. *J. Chromat.*, 59, 472-475.
- DELATTRE R., 1973. — Parasites et maladies en culture cotonnière. *Manuel phytosanitaire. I.R.C.T., Imp. Desseaux et Fils, Argenteuil*.
- DELENTE J. and K. LADENBUG, 1972. — Quantitative determination of the oligosaccharide in defatted soybean meal by gas liquid chromatography. *J. Food Sc.*, 37, 372-374.
- DERMINOT J. et M. TASDHOMME, 1977. — Mise au point d'une méthode d'analyse chromatographique des sucres et exemples d'application aux fibres techniques du lin. *Bull. Sc. I.T.F.*, 6, 23, 179-189.
- DOAT J., 1974. — Application de la chromatographie sur couche mince à l'analyse des gommes et des bois tropicaux. *Bois et Forêts des Tropiques*, 156, 63-74.
- DUBOIS M., K.A. GILLES, J.K. HAMILTON, P.A. REBERS and F. SMITH, 1956. — Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350-354.
- DUNMIRE D.L. and S.E. OTTO, 1979. — High pressure liquid chromatographic determination of sugars in various food products. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 62, 1, 176-185.
- GHOVANLOU H., 1964. — Etude morphologique comparée des différentes formes d'*Aphis fabae* Scop. et d'*Aphis rumicis* L. (Homoptera, Aphididae). Biologie d'*Aphis fabae* Scop. dans la région de Rennes. Thèse de Docteur d'Université, Université de Rennes.
- GORIN N., 1979. — Enzymatic and high pressure liquid chromatographic estimation of glucose, fructose and sucrose in powders from stored onions. *J. Agric. Food Chem.*, 27, 1, 195-197.

- HANSEN S.A., 1975. — Thin-layer chromatographic method for the identification of mono-, di- and tri-saccharides. *J. Chromat.*, 107, 224-226.
- HAVEL E., T.N. TWEETEN, P.A. SEIB, D.L. WETZEL and Y.T. LIANG, 1977. — Oligosaccharides released during hydration of textured soy as determined by high performance liquid chromatography. *J. Food. Sc.*, 42, 3, 666-668.
- HEYN A.N., 1956. — Causes and detection of damage in raw cotton. *Text. Indus.*, 137-145.
- HSU F., D. NUROK and A. ZLTKIS, 1978. — The determination of sucrose in molasses by high performance thin-layer chromatography. *J. Chromat.*, 158, 411-415.
- JENNINGS E.J., 1953. — Another look at honeydew. *Sixth Annual Cotton Merchandising Clinic*. Austin, Texas. ACCO Fiber and Spinning Laboratory Anderson, Clayton and Co., Houston, Texas, 1-16.
- LEBEAU P. et G. COURTOIS, 1946. — *Traité de pharmacie chimique*. Masson et Cie, Ed. Paris.
- Mc. CLOSKEY L.P., 1978. — Technical note. Enzymatic analysis for glucose and fructose. *Amer. J. Enol. Vitic.*, 29, 3, 226-227.
- MOUND L.A., 1962. — Extra-floral nectaries of cotton and their secretion. *Emp. Cot. Grow. Rev.*, 39, 4, 254-261.
- NUROK D. and A. ZLTKIS, 1978. — The separation of malto-oligosaccharides by high-performance thin layer chromatography. *Carbohydr. Res.*, 65, 265-270.
- PASCUAL C.G., R. SINGH and B.O. JULIANO, 1978. Free sugars of rice grain. *Carbohydr. Res.*, 62, 381-385.
- PERCHERON F., 1962. — Colorimetric determination of fructose and fructofuranosides by the thiobarbituric acid reaction. *Compt. Rend.*, 255-2521.
- PERKINS H.H., 1972. — Consideraciones sobre los algodonos pegajosos. *Textiles Panamericanos*, 20-41.
- PERKINS H.H., C.W. ROBERTS and D.W. BASSETT, 1978. Proceedings of Beltwide cotton production research conferences. 91-93.
- PHILLIPS D.V. and A.E. SMITH, 1973. — A rapid method for gas chromatographic analysis of mono and disaccharide mixtures. *Anal. Biochem.*, 54, 1, 95-101.
- POURTALLIER J., 1967. — Détermination quantitative des sucres des miels par chromatographie en phase gazeuse. *Bull. Apicole n° 2*, Ministère de l'Agriculture, Service vétérinaire, Laboratoire de recherches apicoles, 06 Nice.
- RAO P.U. and B. BELAVADY, 1978. — Oligosaccharides in pulses: varietal differences and effects of cooking and germination. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 2, 316-319.
- ROBERTS C.W., H.S. KOENIG, R.G. MERRILL, P.S.E. CHEUNG and H.H. PERKINS, 1976. — Implications of monosaccharides in sticky cotton processing. *Text. Res. J.*, 46-5, 374-380.
- ROBERTS C.W., P.S.R. CHEUNG and H.H. PERKINS, 1978. — Implications of monosaccharides in sticky cotton processing. Part. II. Effects of growing conditions on fiber contaminants. *Text. Res. J.*, 91-96.
- SABBE W.E. and G.W. CATHEY, 1970. — Adaptation of gas-liquid chromatography to analysis of certain sugars of cotton leaves. *Agron. J.*, 62, 36-39.
- SAWARDEKER J.S., J.H. SLONEKER and A. JEANES, 1965. — Quantitative determination of monosaccharides as their alditol acetates by gas-liquid chromatography. *Anal. Chem.*, 37, 1602-1604.
- SCOTT R.W., W.E. MOORE, M.J. EFFLAND and M.A. MILLETT, 1967. — Ultraviolet spectrophotometric determination of hexoses, pentoses and uronic acids after their reactions with concentrated sulfuric acid. *Anal. Biochem.*, 21, 68-80.
- SCOTT T.A. and E.H. MELVIN, 1957. — Methods in enzymology. Colowick S. and Kaplan N.O. ed. Academic Press - New York, 3, 84.
- SEQUEIRA R.M., 1972. — Some aspects of carbohydrate analysis by G.L.C. techniques. *J. Amer. Soc. for sugar beet technology*, 17, 1, 80-89.
- SUON KIM NUOR, J. VIALLE et J.L. ROCCA, 1979. — Détection des sucres en chromatographie en phase liquide après leur dérivation post colonne. *Analysis*, 7, 7-8, 381-385.
- TANAKA M., D. THANANUNKUL, T.C. LEE and C.O. CHICHESTER, 1975. — A simplified method for the quantitative determination of sucrose, raffinose and stachyose in legume seeds. *J. Food Sc.*, 40, 1087-1088.
- TOUCHSTONE J.J., 1973. — Quantitative thin layer chromatography, pp. 330. *J. Wiley ed. New York*.
- VAN HANDEL E., J.S. HAEGER and C.W. HANSEN, 1972. The sugars of some Florida nectars. *Amer. J. Bot.*, 59-10, 1030-1032.
- VAUTIER M., 1971. — Dosage des sucres responsables du collage de certains cotons en filature par chromatographie sur papier. *Bull. I.T.F.V.*, 25, 156, 747-755.
- WATTIEZ N. et F. STERNON, 1942. — *Eléments de chimie végétale*. 2^e éd. Masson et Cie éd. Paris.
- WHISTLER R.L. et M.L. WOLFROM, 1962. — Methods in carbohydrate chemistry. Vol. 1. Analysis and preparation of sugars, pp. 589. *Academic Press New York*.
- WOLF D.D. and T.L. ELLMOR, 1975. — Automated hydrolysis of non reducing sugars and fructosans from plant tissue. *Crop Sci.*, 15, 6, 775-777.
- WYATT B.G., 1976. — Sticky cottons. *Text. Indus.*, 144-165.

SUMMARY

The knowledge of the sugars of the cotton plant concerns the research (entomology, technology) but also the food and the textile industries.

The author first recalls the principal methods commonly used to determine the sugars in plants. The methods particularly adapted to the cotton plant and its by-products, seeds, meals and fibres are also reviewed.

A new thin-layer chromatographic method that enables the determination of monoses and oligosaccharides is described. A first variant of the procedure is particularly suitable for the identification and the determination of glucose, fructose and oligosaccharides (saccharose, melezitose, raffinose, stachyose). A second application of the same procedure is perfectly adapted to the separation and the determination of monoses (rhamnose, xylose, arabi-

nose, fructose, glucose), of saccharose, melezitose and raffinose.

Some analytical results related to the problems associated with "fibre stickiness" are presented.

Important conclusions may be drawn from this experiment; the fibres of the cotton plant are naturally loaded with sugars within the boll itself. Later on fibres are contaminated by insect excreta and by specialized plant cells (nectaria) or non-specialized plant cells (injured cells). Melezitose is only present when the plant is attacked by insects. The large amount of saccharose is directly related to the intensity of the multiplications of insect pests. Raffinose is only present in seeds and their by-products (cake and meals). No particular sugar characterizes the honeydew produced by a specific insect pest.

RESUMEN

El conocimiento de los azúcares del algodón interesa la investigación (entomología, tecnología), pero también las industrias alimenticia y textil.

Después de haber recordado los principales métodos utilizados corrientemente para dosificar los azúcares en los vegetales, el autor pasa revista a los métodos particularmente adaptados al algodón y sus derivados: semillas, harinas fibras.

Se describe un nuevo método de cromatografía en capa fina, que permite dosificar a la vez las monosas y los oligosacáridos. Una primera variante del procedimiento se dirige a la identificación y a la dosificación de la glucosa, la fructosa y los oligosacáridos (sacarosa, melecitosa, rafinosa, estaquiosa). Una segunda aplicación está perfectamente adaptada a la separación y dosificación de las monosas (ram-

nosa, xilosa, arabinosa, fructosa, glucosa) de la sacarosa, la melecitosa y la rafinosa.

Se presentan algunos resultados de análisis en el marco de los problemas de apegado de las fibras en hilandería.

Se despejan importantes conclusiones de esta experimentación: las fibras del algodón están naturalmente cargadas de azúcar, incluso en la propia cápsula; posteriormente, se ensucian debido a las secreciones de insectos y células vegetales, especializadas (nectarias) o sin especializar (células heridas). La melecitosa, sólo se encuentra presente si la planta ha sido parasitada por insectos. La abundancia de la sacarosa se encuentra directamente vinculada a la intensidad de las pululaciones. La rafinosa sólo existe en las semillas y sus derivados (tortas, harinas). Ningún azúcar particular caracteriza el mielato producido por un parásito determinado.